UNIVERSITE BORDEAUX II

FACULTÉ DE PHARMACIE

1971 — N° 621

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ACTIVITÉ ANTIPARASITAIRE DU DITHYMYL-METHANE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

PAR

GUY FARAGGI

né à Vincennes (Val de Marne), le 8 avril 1946

présentée et soutenue publiquement le jeudi 8 juillet 1971

Examinateurs de la thèse :

- MM. J. BAILENGER, Professeur ..... *Président.*
- R. CASTAGNOU, Professeur .....
- R. PAUTRIZEL, Professeur ..... *Juges.*
- R. GOLSE, Professeur .....
- Mlle S. LARCEBAU, Professeur ..... *Juge suppléant*

1971

UNIVERSITE BORDEAUX II

FACULTÉ DE PHARMACIE

1971 — N° 621

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ACTIVITÉ ANTIPARASITAIRE DU DITHYMYL-METHANE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

PAR

GUY FARAGGI

né à Vincennes (Val de Marne), le 8 avril 1946

présentée et soutenue publiquement le jeudi 8 juillet 1971

Examinateurs de la thèse :

MM. J. BAILENGER, Professeur ..... *Président.*

R. CASTAGNOU, Professeur .....

R. PAUTRIZEL, Professeur ..... *Juges.*

R. GOLSE, Professeur .....

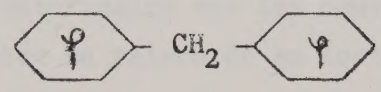
Mlle S. LARCEBAU, Professeur ..... *Juge suppléant*

1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

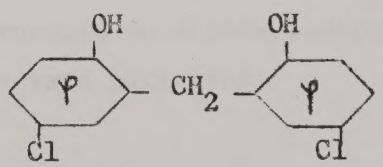
- INTRODUCTION -

Les recherches entreprises par certains auteurs sur l'étude des propriétés anthelminthiques de quelques dérivés du diphényl-méthane, ont permis la découverte de leur action à l'égard de certains helminthes parasites des animaux.



Deux dérivés se sont montrés particulièrement intéressants :

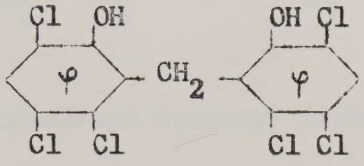
- Le di-chlorophène : (2-2' - dihydroxy 5-5' di-chlorodiphényl-méthane)



Ce dérivé est actif sur les tenias parasites de la souris : GRAS et UN (10) déparasitent 85 % des souris infestées expérimentalement par Hymenolepis nana en leur administrant le dichlorophène, par voie orale, à la dose de 250 mg/kg.

Cette activité taenicide se manifeste également à l'égard des Cestodes du chien, du chat et du mouton ainsi qu'à l'égard des Taenia saginata et T. solium en thérapeutique humaine.

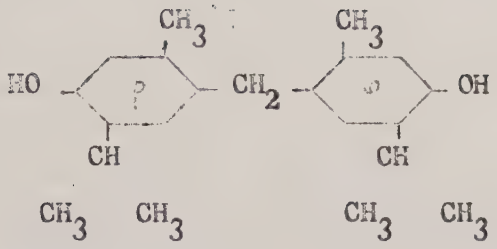
- L'héxachlorophène : (2-2' dihydroxy 3-3', 5-5', 6-6' hexachloro diphényl méthane).



KERR (12) met en évidence en 1948 l'activité de ce composé vis à vis de Raillietina cesticillus, cestode parasite du poulet. Depuis GUILHON et GRANER (11) en 1961 ainsi que BOCH (8) en 1963, l'utilisent avec succés en médecine vétérinaire sur les douves du bétail. Son utilisation actuelle est limitée en raison de sa forte toxicité.

L'efficacité de ces produits a permis de mettre en évidence l'importance de la molécule du diphényl-méthane en tant que structure de base pour la recherche de nouveaux anthelminthiques.

L'activité bien connue et largement utilisée depuis longtemps du thymol nous ont conduit à synthétiser le dithymyl-méthane en unissant deux molécules de thymol par un groupement - CH_2 - réalisant ainsi un composé présentant la structure du diphényl-méthane et dont nous évaluons la nocivité à l'égard des vers parasites.



[di (ortho-isopropyl-méta-méthyl-hydroxy) diphényl] méthane ou dithymyl-méthane.

La parenté qui existe entre le diphényl-méthane et le dithymyl-trichloréthane dont BAILENGER, AMYOT et ROUGE (1, 2, 3, 4, 5, 6, 17) ont étudié les propriétés anthelminthiques et insecticides nous amène à tester également cette nouvelle molécule à l'égard des insectes.

PREMIERE PARTIE

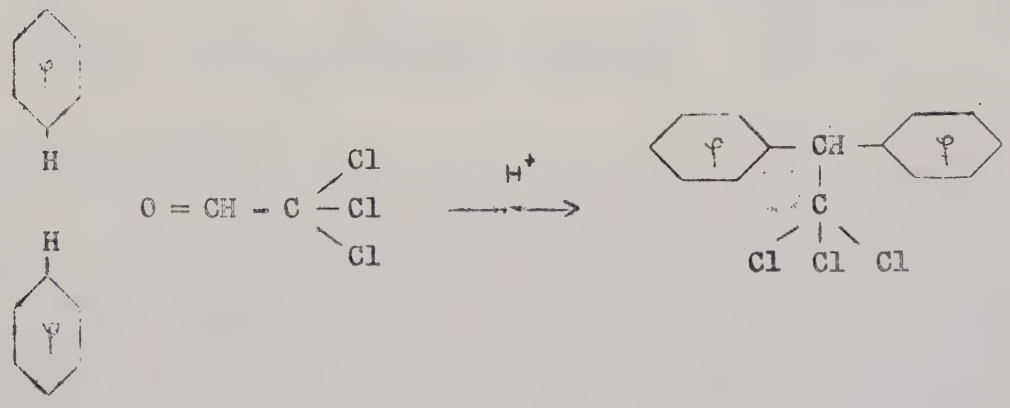
E T U D E P H Y S I C O C H I M I Q U E

I

SYNTHÈSE

A - PRINCIPE

En 1874, ZEIDLER décrit la synthèse du dichloro-diphényl-trichloréthane ou D.D.T. Elle consiste à condenser deux noyaux benzéniques avec une molécule de chloral anhydre en présence d'acide sulfurique concentré, selon le schéma général suivant :



Nous avons donc repris ce principe en y apportant certaines modifications :

- Le remplacement des noyaux benzéniques par deux molécules de thymol.
- L'utilisation d'une molécule de méthylal à la place du chloral.

B - REACTIFS

- Thymol
- Méthylal
- Acide sulfurique concentré
- Acide acétique pur cristallisable

C - PREPARATION

Introduire successivement dans un flacon de KELLER placé dans un bain réfrigérant, 45 ml d'acide acétique pur cristallisable, 22,8 g de méthylal puis 112,5 g de thymol. Le tout est brassé continuellement avec un agitateur. Lorsque le mélange atteint une température inférieure à + 15° C, verser goutte à goutte 480 ml d'une solution acéto-sulfurique (1 volume d'acide acétique pour 3 volumes d'acide sulfurique) en veillant à ce que la température ne dépasse jamais + 20° C. Le mélange prend un aspect laiteux, s'épaissit, rougit, pour former finalement une masse grumeleuse de couleur groseille. Elle est alors introduite dans trois litres d'eau distillée glacée et laissée en contact pendant 48 heures. La suspension initialement rouge devient progressivement blanche et précipite lentement. Au bout de ces 48 heures, receuillir le dépôt par filtration sur verre fritté sous aspiration.

D - PURIFICATION

Le produit ainsi obtenu, est lavé à l'eau chlorydrique à 10 p. 100 puis à l'eau distillée jusqu'à obtention d'un filtrat limpide et qui ne précipite pas par l'action d'acide sulfurique. Reprendre alors le produit par l'eau distillée à l'ébullition, filtrer, essorer et sécher. Laver ensuite plusieurs fois à l'éther de pétrole (40° - 65°) bouillant, jusqu'à ce qu'il devienne incolore. Après filtration, évaporer le solvant, et achever la purification par une double cristallisation dans l'alcool à 50°.

II

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Le dithymyl-méthane se présente sous la forme d'une poudre blanche, incolore, inodore et sans saveur.

Poids moléculaire : 312

A - COMPOSITION

Les teneurs en C, H et O exprimées en grammes pour 100 g de produit sont les suivantes :

Valeurs théoriques	Valeurs trouvées*
80,76	80,86
8,97	9,02
10,25	10,44

B - POINT DE FUSION

Il est de 163,5° C au banc de KOEFFLER.

C - SOLUBILITES A 22° C

Eau : insoluble

Ether de pétrole : insoluble

Benzène : 1 p. 100

Alcool éthylique à 95 }
Ether sulfurique } Très soluble
Acétone }

* Service central de Microanalyse du C.N.R.S.

D - DOSAGE DES GROUPEMENTS HYDROXYLS

1°) Principe

Les groupements hydroxyls en présence d'anhydride acétique en excés connu, sont acétylés. Après hydrolyse de l'excés d'anhydride acétique, on dose l'acide acétique obtenu par de la soude titrée.

2°) Technique

Peser exactement 500 mg environ de produit ; le placer au contact d'1 ml d'anhydride acétique et 3 ml de pyridine dans un ballon à col rodé muni d'un réfrigérant à reflux. Porter au bain-marie bouillant pendant 45 minutes. Ajouter 10 ml d'eau distillée. Laisser au bain-marie bouillant encore 15 minutes puis, après refroidissement, laver la colonne du réfrigérant à l'eau distillée. Doser l'acide acétique ainsi obtenu par de la soude N/2.

Remarque : réaliser parallélement un témoin, dans les mêmes conditions que pour le dosage, en l'absence de produit.

3°) Résultats

Les résultats sont exprimés en % d'hydroxyls.

D'après la relation :

$$\frac{(N - n) \times 8,5}{p} \times 100$$

N = nombre de ml de soude versés pour neutraliser le témoin,
n = nombre de ml de soude versés pour neutralier l'échantillon,
p = poids en mg de la prise d'essai,

en théorie nous aurions dû trouver 11,09 %,
en pratique nous avons obtenu 11,22 %.

DEUXIEME PARTIE

T O X I C I T E

Nous limitons notre étude à celle de la toxicité aigüe selon la méthode de BEHRENS et KAERBER (7).

I
PRINCIPE

Cette méthode consiste à déterminer la dose létale 50 ou D.L. 50 : dose tuant 50 p. 100 des animaux en expérience. Pour cela on fait absorber par voie buccale à des lots homogènes de souris des doses croissantes du produit à étudier, comprises entre la dose maxima tolérée et la dose tuant toutes les souris en expérience.

II
CONDITIONS DE DETERMINATION

En raison de l'insolubilité du dithymyl-méthane dans l'eau distillée, nous utilisons une suspension de produit à 5 p. 100 dans une solution de gomme arabique à 1 p. 100. La faible toxicité de cette substance nous a amené à élever considérablement les doses et par conséquent à fractionner les prises.

III
RESULTATS

Nos essais préliminaires portant sur un petit nombre d'animaux, aux doses de 1 et 5 g/kg, ne nous ont pas permis de déterminer la dose maxima tolérée. Nous avons donc réalisé un second essai, toujours à la dose de 5 g/kg, sur un lot de 10 souris. Le taux de mortalité s'avérant encore une fois nul, le dithymyl-méthane doit être considéré comme pratiquement dépourvu de toxicité.

IV

ETUDE COMPAREE AVEC LE THYMOL ET LE DITHYMYL TRICHLORETHANE

En 1967 AMYOT (1) détermine les toxicités du thymol et du dithymyl-trichloréthane dans les mêmes conditions que précédemment.

Les résultats obtenus par AMYOT sont présentés dans le Tableau I. En les comparant à ceux obtenus au cours de notre étude pour le dithymyl-méthane nous constatons :

- la suppression presque totale du pouvoir toxique du thymol lorsqu'il fait partie d'une molécule plus complexe : dithymyl-méthane ou dithymyl-trichloréthane.
- une tolérance légérement meilleure par substitution du pont méthane au pont trichloréthane.

TABLEAU I

Toxicité comparée du thymol,
dithymyl-méthane et du dithymyl-trichloréthane
sur la souris

Produits	Doses (g/kg)	mortalité (pourcentage)
Thymol	1,21	50
Dithymyl-trichloréthane	5,0	20
Dithymyl-méthane	5,0	0

TROISIEME PARTIE

ACTIVITE ANTHELMINTHIQUE

D'une façon générale, deux catégories de méthodes peuvent être utilisées pour évaluer les propriétés anthelminthiques d'un produit :

- Méthodes d'essais "in vivo"
- Méthodes d'essais "in vitro"

I

CONDITIONS DE DETERMINATION

En raison de l'insolubilité du dithymyl-méthane dans l'eau, il ne nous a pas été possible de déterminer son pouvoir anthelminthique "in vitro" à l'égard d'une coproculture de Rhabditis macrocerca, nématodes saprophytes du lapin.

Nous avons donc limité notre étude aux méthodes d'essais "in vivo" sur Syphacia obvelata (RUDOLPHI, 1802) et Aspiculuris tetraptera (NITZSCH, 1821), oxyuridés ainsi que sur un cestode Hymenolepis nana (VON SIEBOLD 1852) tous parasites de la souris. Le produit est généralement administré par tubage gastrique et le résultat est établi en évaluant le parasitisme, à l'autopsie des rongeurs.

A - CHOIX DES ANIMAUX

Nous utilisons des souris blanches âgées de 5 à 6 semaines, provenant d'un même élevage et pesant environ 20 g.

B - RECHERCHE DES PARASITES

Toutes les souris n'étant pas parasitées on est obligé de soumettre au préalable les animaux à un examen parasitologique en vue de déterminer la présence de parasites et leur nature (Tableau II)

Pour cela nous utilisons la méthode de concentration par flottation de JANECKSO et URBANYI. Quelques pellets fécaux émis par les souris isolées sont prélevés et placés dans un tube à hémolyse. Nous les triturons avec 1 à 2 ml de réactif iodo-mercurique de JANECKSO, puis après centrifugation nous prélevons les oeufs en surface à l'aide d'une anse métallique et nous examinons au microscope.

Le parasitisme des souris est très fréquent pour Aspiculuris tetraptera et Syphacia obvelata, mais assez inconstant pour Hymenolepis nana. Nous sommes alors obligés d'avoir recours à des souris infestées expérimentalement. La méthode que nous avons utilisé est celle mise au point par CAVIER (9). Elle consiste à prendre des souris âgées de 4 à 6 semaines exemptes de parasites, auxquelles on administre par tubage gastrique une suspension d'oeufs embryonnés d'Hymenolepis nana dans le sérum physiologique (50 oeufs dans 0,25 ml). Cette suspension est obtenue après dilacération des derniers segments du ver adulte dans le liquide de Ringer ; puis concentration des oeufs par centrifugation.

C - TRAITEMENT

Les souris hébergeant le même parasite, sont réparties en deux lots homogènes.

L'un reçoit une dose déterminée de la suspension de dithymylméthane, l'autre servant de témoin ne reçoit qu'une quantité égale de l'excipient.

L'administration des produits se fait par tubage gastrique à l'aide d'une seringue qui porte en son extrémité une sonde métallique.

La durée du traitement est variable :

Pour les oxyurides elle est de 6 jours à raison d'un ou deux tubages par jour.

Pour les tenias, elle varie selon que l'on considére l'action taenicide ou taenifuge du produit.

- Action taenicide : un ou deux tubages par jour pendant 6 jours ;
- Action taenifuge : un seul traitement en une seule prise suivi d'une purgation.

La détermination de l'activité taenifuge consiste selon CAVIER (9) à traiter un lot de souris infestée expérimentalement par Hymenolepis nana et à jeun depuis 12 heures (leur nourriture étant uniquement assurée par une solution de saccharose à 5 %) par une dose déterminée du produit à étudier. Quatre heures plus tard, on administre, toujours par tubage gastrique, 0,25 ml d'une solution à 10 % de Sulfate de sodium ($SO_4 Na_2$, $10H_2O$) par animal de 20 g environ, servant de purgatif et destinée à favoriser l'expulsion des parasites.

D - CONTROLE DU TRAITEMENT

48 heures après la fin de l'expérience, tous les animaux sont sacrifiés, puis autopsiés.

Les organes où se trouvent habituellement les vers sont prélevés et placés dans le sérum physiologique afin de rechercher les parasites.

Partie terminale de l'intestin grêle : Hymenolepis nana ;
Coecum : Syphacia obvelata ;
Colon : Aspiculuris tetraptera.

Chaque fragment intestinal est incisé longitudinalement en prenant soin pour l'intestin grêle de ne pas sectionner les strobiles d'Hymenolepis car cela rendrait le comptage plus difficile.

La numération et l'identification des vers est faite ensuite à la loupe binoculaire. (Voir tableau II)

Remarque : En ce qui concerne Hymenolepis nana on numére les scolex, du fait que les vers peuvent être sectionnés lors de l'incision.

TABLEAU II

CARACTERES D'IDENTIFICATION DES OEUFS

ET DES VERS

	Caractères		Aspiculuris tetraptera	Syphacia obvelata
OEUFS	Couleur		Jaune brun ;	Incolore
	Forme		Ovoide, massif cellulaire interne	Asymétrique
ADULTES	Extrêmité antérieures (Mâles et femelles)		Ailes céphaliques développées, terminées brusquement au niveau du bulbe oesophagien	Ailes céphaliques rudimentaires
	Extrêmité postérieure	Mâles	Conique, absence de gubernaculum	Pointue, présence de gubernaculum
		Femelles	Conique	Effilée
	Vulve		Au milieu du corps	Au tiers antérieur du corps

II

RESULTATS

Tous nos résultats tiennent compte du "pourcentage de déparasitage" ainsi que du "pourcentage de réduction parasitaire".

- Pourcentage de déparasitage : Il tient compte du déparasitage spontané qui peut se produire normalement chez les souris témoins.

Le rapport permettant de le calculer est le suivant :

$$\frac{\text{Nombre de souris traitées déparasitées} - \text{Nombre de souris témoins déparasitées}}{\text{Nombre de souris en expérience} - \text{Nombre de souris témoins déparasitées}} \times 100$$

- Pourcentage de réduction parasitaire : Il est exprimé par le rapport :

$$\frac{\text{Nombre moyen de vers souris témoins} - \text{Nombre moyen de vers souris traitées}}{\text{Nombre moyen de vers souris témoins}} \times 100$$

Les résultats que nous avons obtenus au cours de cet étude permettent de constater les faits suivants :

- A l'égard d'Aspiculuris tetraptera, le dithymyl-méthane est pratiquement inactif (Tableau III). En effet, il ne nous a pas été possible d'obtenir un déparasitage total des souris. Toutefois à la dose de 3 g/kg et par jour pendant 6 jours il permet une réduction du nombre de vers de 61 %.

- Vis à vis de Syphacia obvelata il est dénué de toute activité (Tableau IV).

- En ce qui concerne Hymenolepis nana il ne posséde pas d'action taenifuge (Tableau V) mais en tant que taenicide, aux doses utilisées, il réduit le parasitisme sans cependant permettre un déparasitage complet (Tableau VI).

Nous pouvons donc conclure que le dithymyl-méthane semble être peu actif sur les oxyuridés de la souris : pas d'action sur Syphacia, une réduction sensible des Aspiculuris sans déparasitage d'aucun rongeur. Du point de vue d'Hymenolepis nana l'activité tout en étant réduite est cependant plus marquée car outre une certaine réduction parasitaire un faible pourcentage de souris est complétement déparasité.

TABLEAU III

ACTION DU DITHYMYL-METHANE

SUR ASPICULURIS TERRAPTERA

Nbre de souris	Nbre de jours de traite-ments	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée g/kg	Nbre moyen de vers par souris	Pourcentages de déparasitage	Pourcentages de réduction
UN TRAITEMENT PAR JOUR						
17 T 10 E	6	2 g	12 g	79 37	0 %	53 %
8 T 6 E	6	3 g	18 g	165 63	0 %	61 %
7 T 7 E	2	3 g	6 g	206 110	0 %	46 %
DEUX TRAITEMENTS PAR JOUR A 8 HEURES D'INTERVALLE						
17 T 10 E	6	2 g	12 g	79 137	0 %	0 %

T = Témoin E = Epreuve

Aucune mortalité n'est survenue en cours de traitement.

TABLEAU IV

ACTION DU DITHYMYL-METHANE

SUR SYPHACIA OBVELATA

Nbre de souris	Nbre de jours de traite-ments	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée g/kg	Nbre moyen de vers par souris	Pourcentages de déparasitage	Pourcentages de réduction
5 T	6	2 g	12 g	6	0 %	0 %
5 E				16		
4 T	6	3 g	18 g	14	0 %	0 %
4 E				15		

TABLEAU V

ACTION DU DITHYMYL-METHANE SUR HYMENOLEPIS NANA

(ACTION TAENICIDE)

Nbre de souris	Nbre de jours de traite-ments	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée g/kg	Nbre moyen de vers par souris	Pourcentage de déparasitage	Pourcentage de réduction
3 T	1	3 g	3 g	2	25 %	0 %
4 E				2		

TABLEAU VI

ACTION DU DITHYMYL - METHANE

SUR HYMENOLEPIS NANA

(ACTION TAENICIDE)

Nbre de souris	Nbre de jours de traite-ments	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée g/kg	Nbre moyen de vers par souris	Pourcentages de déparasitage	Pourcentages de réduction
UN TRAITEMENT PAR JOUR						
7 10	6	2 g	12 g	6 5	40 %	1,6 %
8 7	6	3 g	18 g	20 6	0 %	70 %
7 6	2	3 g	6 g	3 2	29 %	36 %
DEUX TRAITEMENTS PAR JOUR A 8 HEURES D'INTERVALLE						
7 10	6	2 g	12 g	6 3	20 %	50 %

III

DISCUSSION

Tout comme le dithymyl-méthane, le dithymyl-trichloréthane est constitué essentiellement par deux molécules de thymol. La différence porte sur la nature du pont qui les réunit. Pour cette raison, il nous a semblé intéressant de comparer les propriétés anthelminthiques du thymol et de ces deux dérivés en nous plaçant dans les mêmes conditions expérimentales.

Les propriétés du thymol sont connues depuis longtemps contre les ankylostomes, l'Ascaris, l'Oxyure et le Trichocéphale. L'activité ne se limite pas uniquement à ces Nématodes ; son efficacité à l'égard des tenias et des douves est également utilisée.

Cependant notre étude expérimentale de l'activité du thymol sur les parasites intestinaux des rongeurs aboutit à la démonstration de son inefficacité aussi bien à l'égard des oxyuridés que vis à vis des cestodes de la souris (Tableau VII).

Les résultats acquis par AMYOT (1) au sujet de l'activité anthelminthique du dithymyl-trichloréthane (Tableau VIII) montrent que la dose de 0,25 g/kg et par jour pendant 6 jours déparasite 50 % des animaux de Syphacia obvelata mais exerce une action plus faible à l'égard d'Aspiculuris tetraptera :àladose de 0,50 g/kg et par jour pendant 6 jours l'élimination des parasites ne porte que sur 66 % des souris infestées. En ce qui concerne Hymenolepis nana sa nocivité est négligeable : 6 traitements de 1 g par kg sont inefficaces.

L'activité du dithymyl-méthane est plus marquée vis à vis d'Hymenolepis nana que sur les oxyures de la souris. Il rejoint dans ce sens le dichlorophéne et l'héxachlorophéne tous deux également dérivés du diphényl-méthane et dont la toxicité porte essentiellement sur les Plathelminthes.

La substitution du radical $- \overset{|}{\underset{|}{C}} - CCl_3$ au radical $- CH_2 -$ inverse les propriétés pharmacologiques de ces molécules vis à vis des helminthes des souris : la nocivité à l'égard d'Hymenolepis nana (Cestode) disparait tandis que se manifeste une action sur les oxyuridés.

TABLEAU VII

ACTIVITE ANTHELMINTHIQUE DU THYMOL

Nbre de souris	Nbre de jours de traite-ments	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée g/kg	Nbre moyen de vers par souris	Pourcentages de déparasitage	Pourcentages de réduction
ASPICULURIS TETRAPTERA						
8	6	0,20 g	1,20 g	58	0 %	0 %
8				79		
SYPHACIA OBVELATA						
8	6	0,20 g	1,20 g	21	0 %	0 %
8				22		
HYMENOLEPIS NANA (Taenicide)						
8	6	0,20 g	1,20 g	7	0 %	0 %
8				11		
HYMENOLEPIS NANA (Taenifuge)						
7	1	0,20 g	0,20 g	3	0 %	33 %
6				2		

TABLEAU VIII

ACTIVITES ANTHELMINTHIQUES ET TOXICITES COMPAREES

Réf.	Toxicité DL_{50} (g/kg)	Activité anthelminthique (doses actives en g/kg/ jour pendant 6 jours)					
		Aspiculuris tetraptera		Syphacia obvelata		Hymenolepis nana	
		a	b	a	b	a	b
1	1,21	-	-	-	-	-	-
2	7,35	0,50	0,07	0,25	0,08	-	-
3	peu toxique	-	2	-	-	-	2,7

1 = Thymol ;

2 = Dithymyl-trichloréthane ;

3 = Dithymyl-méthane.

a = Dose susceptible de déparasiter 50 % des souris.

b = Dose entraînant une réduction de 50 % du nombre de vers par souris.

- = Inactif.

QUATRIEME PARTIE

A C T I V I T E I N S E C T I C I D E

Depuis 1947, époque à laquelle est signalée pour la première fois une résistance au D.D.T., le nombre de nouvelles espéces résistantes n'a cessé de croître, à tel point qu'en 1968, l'Organisation Mondiale de la Santé signale 102 espéces différentes d'insectes devenues résistantes aux principaux insecticides de contact.

L'importance de ce phénoméne lié à l'utilisation intensive et irrationnelle de ces insecticides d'action rémanente joint à leur accumulation dans l'organisme des animaux justifie la recherche de nouvelles molécules insecticides.

Parmi les méthodes utilisées pour apprécier la valeur insecticide d'un produit nous avons choisi celles préconisées par l'O.M.S. (13, 14, 15, 16).

Les essais consistent à soumettre des lots homogènes d'insectes à l'action d'un insecticide pendant un temps donné dans le but de déterminer le nombre de morts correspondant à chaque concentration.

Trois espéces d'insectes nous ont servi à réaliser notre étude : 2 diptères et un hétéroptére.

- Musca Donestica : Diptére, Brachycére Muscidé, ou "mouche domestique".
- Anophéles Stephensi : Diptère, Nématocere Culicidé.
- Rhodnius prolixus : Hétéroptére, Réduvidé Triatominé.

La détermination de la sensibilité des insectes à une substance donnée, est basée sur la recherche de la concentration létale 50 ou CL_{50}

qui est la concentration d'insecticide tuant la moitié des insectes en expérience et de la concentration létale 90 ou CL_{90} dose à laquelle 90 % des insectes meurent.

Ces deux concentrations sont définies aprés établissement d'une courbe dose mortalité sur un papier gausso logarithmique.

Nous déterminons l'activité insecticide du diphényl-méthane parallélement à celle du D.D.T., qui est pris comme élément de référence, de façon à pouvoir comparer leurs actions.

La parenté de structure qui existe entre le dithymyl-méthane et le dithymyl-trichloréthane nous a également incité à comparer leur nocivité à l'égard des insectes.

I

ETUDE SUR MUSCA DOMESTICA

Nous utilisons une souche de mouches "Musca domestica" qui nous a été fournie par l'Organisation Mondiale de la Santé* à l'état de nymphes.

A - CONDITIONS D'ELEVAGE

Les nymphes placées dans des cages recouvertes de tulle, donnent naissance aux adultes en quelques jours. Leur nourriture est alors assurée par du sucre en poudre et des tampons de coton imprégnés séparément de lait et d'eau

Au moment de la ponte, les femelles viennent déposer la nuit leurs oeufs à la surface des cotons imprégnés de lait.

Aussitôt aprés, les cotons sont récupérés et on procéde à la séparation des oeufs. Pour cela nous disposons un entonnoir en verre rempli d'eau distillée ou l'on place les cotons sur lesquels les oeufs ont été pondus. Un tube en caoutchouc obturé par une pince est adapté à l'entonnoir. Les oeufs stériles restent à la surface de l'eau tandis que les oeufs embryonnés sédimentent et sont récupérés par tamisage. Ces oeufs placés sur des milieux d'élevage, donnent naissance aux larves en quelques heures.

---

* Standard Insect Strain Référence Centre ; Institut de Zoologie Université de Pavie ITALIE.

Les milieux d'élevage sont constitués par 2 volumes de son de blé, 2 volumes de lait frais et un volume d'eau. L'utilisation de lait frais est recommandée en raison de la toxicité que manifeste le lait en poudre à l'égard des jeunes larves. Ces milieux sont d'autre part additionnés de para-hydroxy-benzoate de méthyle à la dose de 5 parties pour 10.000 dans le but d'empêcher le développement des moisissures.

Les cultures sont placées à l'intérieur d'une étuve thermostatée à 28° C dont l'humidité relative est de l'ordre de 75 %. Cette enceinte doit être pourvue d'un système permettant le renouvellement d'air en raison du dégagement de CO_2, dû à la fermentation des cultures.

L'état nymphal est atteint au bout du 7ème jour suivant l'éclosion des oeufs. Nous retirons alors l'élevage de l'étuve et récupérons les nymphes qui sont placées directement dans les cages d'adultes.

B - METHODES D'ETUDES

Deux sortes de méthodes nous sont proposées par l'O.M.S. (13, 14) pour déterminer l'activitée insecticide d'un produit vis à vis des mouches.

Quelque soit la méthode utilisée on prend toujours des mouches âgées de 3 à 6 jours. D'autre part, les conditions d'humidité et de température sont les mêmes :

Humidité relative : 25 %
Température : 20° - 30° C.

1°) Méthode utilisant un dépôt microcristallin

a) Principe : Des lots mixtes de mouches sont placés dans des récipients d'épreuve, enduits intérieurement d'une fine pellicule microcristalline de produit.

Les mouches n'étant pas immobilisées, le temps de contact pendant lequel les insectes sont soumis à l'action du produit, est théorique.

b) Technique : Les produits sont dissouts dans l'acétone pure et leurs solutions diluées de façon à obtenir les différentes concentrations d'épreuve.

La surface interne des flacons étant de 122 cm2, il suffit de mesurer 1,22 ml de chacune des solutions pour réaliser, aprés évaporation, une concentration en mg au métre carré qui soit égale à la même concentration en mg par 100 ml d'acétone.

Des précautions doivent être prises pour obtenir une répartition homogène du dépôt microcristallin du produit sur les parois du récipient. On y parvient par rotation manuelle continue des flacons en position inclinée dans une atmosphére doucement chauffée et ceci jusqu'à évaporation totale de l'ácétone.

Les mouches préalablement anesthésiées par le froid (15 minutes au réfrigérateur à + 4° C) sont introduites par lots de 25 dans les récipients qui sont placés horizontalement à 60 cm d'une source lumineuse, pendant une heure. Toutes les 15 minutes on fait subire aux flacons une rotation d'un quart de tour.

Nous transférons ensuite ces mouches, pour une période de 24 heures, dans des tubes de mise en observation dépourvus de toute trace de produit. Leur nourriture est assurée pendant l'opération par un tampon imprégné d'eau glucosée à 10 p. 100.

Après 24 heures d'exposition nous déterminons le nombre de morts correspondant à chaque concentration. La détermination des sexes, qui est basée sur l'observation des dépendances externes de l'appareil copulateur, est réalisée après avoir tué les survivants à l'acétate d'éthyle. Le mâle posséde des pièces chitineuses qui représentent le 10ème segment abdominal, les femelles par contre présentent un oviscapte rétractile à l'intérieur du corps.

2°) Méthode utilisant l'application topique

Le matériel que nous avons utilisé pour réaliser cet étude nous a été délivré par le Service de la Biologie des Vecteurs et de la Lutte Antivectorielle : O.M.S.

a) Principe : Cette méthode consiste à déposer à l'aide d'un applicateur capillaire une microquantité de solution de chaque substance sur la face dorsale des mouches.

Les insectes étant soumis à l'action du produit de façon permanente le temps de contact est réel et non plus apparent comme précedemment.

b) Technique : Nous procédons tout d'abord à la préparation d'une soulution mére à 5 % de chaque produit en dissolvant 500 mg dans 10 ml d'un mélange à volumes égaux d'huile d'olive neutralisée et d'acétone pure. A partir de ces solutions méres nous obtenons, par dilutions, successives, la série des concentrations nécessaires à l'épreuve.

Ces solutions étant d'assez mauvaise conservation il est préférable de les préparer extemporanément.

Les mouches sont d'abord légérement anésthésiées par refroidissement pendant 15 minutes au réfrigérateur à + 4° C. Elles sont ensuite réparties par lots homogénes de 20 dans des gobelets en carton. Nous leur faisons alors subir une anesthésie plus poussée à l'acétate d'ethyle de façon à pouvoir les traiter.

Sur la face dorsale de chaque insecte, au niveau de la région thoracique, nous déposons, à l'aide d'un applicateur capillaire, 0,36 μl de chacune des oleo solutions.

Un témoin qui reçoit dans les mêmes conditions que précédemment 0,36 μl d'une solution acétonique d'huile d'olive, est réalisé en même temps.

Tous les lots sont placés en observation pendant 24 heures, leur nourriture étant assurée par un coton imbibé d'eau glucosée à 10 p. 100.

A la fin de la période d'exposition nous enregistrons le nombre de morts correspondant à chaque concentration puis nous tuons les survivants à l'acétate d'éthyle pour réaliser la détermination des sexes comme cela a été précédemment indiqué.

C - RESULTATS

Tout insecte en position dorsale ou incapable de se mouvoir est considéré comme mort.

Nous déterminons uniquement les pourcentages de mortalité corrigés. Ils tiennent compte du nombre de morts dans le témoin. La formule d'ABBOTT permet de les calculer :

$$\frac{\text{Nbre de morts dans l'épreuve} - \text{Nbre de morts dans le témoin}}{\text{Nbre de mouches en expérience} - \text{Nbre de morts dans le témoin}} \times 100$$

Toute expérience où la mortalité des témoins dépasse 20 % doit être comptée comme nulle.

D'après les résultats obtenus (Tableaux X, XI, XII) on constate qu'indépendament de la méthode utilisée, l'activité du dithymyl-méthane ainsi que celle du dithymyl-trichloréthane reste toujours nulle même lorsqu'il intervient à des concentrations 10 fois supérieures à celles pour lesquelles le DDT détermine une mortalité de 100 %.

TABLEAU X

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE

ET DU DITHYMYL-TRICHLORETHANE SUR MUSCA DOMESTICA

- Technique par Dépôt microcristallin -

Concentration en mg/m2	Nbre de mouches	Population ♀ ♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
D.D.T.				
1	25	16 9	22	88 %
2	25	14 11	25	100 %
4	25	13 12	25	100 %
DITHYMYL-METHANE				
10	25	14 11	5	20 %
DITHYMYL-TRICHLORETHANE				
10	25	8 17	9	36 %
TEMOIN				
	25	15 10	0	

TABLEAU XI

ACTIVITE DU D.D.T. DU DITHYMYL-METHANE ET
DU DITHYMYL-TRICHLORETHANE SUR MUSCA DOMESTICA
- Technique par dépôt microcristallin -

Concentration en mg/m2	Nbre de mouches	Population ♀	♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
D.D.T.					
0,1	20	10	10	0	0
0,5	20	10	10	0	0
1	20	9	11	10	50 %
2	20	10	10	13	65 %
DITHYMYL-METHANE					
10	20	7	13	0	0 %
DITHYMYL-TRICHLORETHANE					
10	20	7	13	0	0 %
TEMOIN					
	20	10	10	0	

TABLEAU XII

ACTIVITE DU D.D.T, DU DITHYMYL-METHANE ET

DU DITHYMYL-TRICHLORETHANE SUR MUSCA DOMESTICA

- Technique par application topique -

Concentration en %	Nbre de mouches	Population ♀	♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
D.D.T.					
0,01 %	20	5	15	0	0 %
0,05 %	20	5	15	0	0 %
0,1 %	20	5	15	16	79 %
0,5 %	20	8	12	20	100 %
1 %	20	10	10	20	100 %
DITHYMYL-METHANE					
1 %	20	8	12	0	0 %
2,5 %	20	10	10	0	0 %
5 %	20	5	15	0	0 %
DITHYMYL-TRICHLORETHANE					
1 %	20	7	13	0	0 %
2,5 %	20	3	17	1	0 %
5 %	20	8	12	1	0 %
TEMOIN					
Acétone + huile d'olive	20	10	10	1	

II

ETUDE SUR ANOPHELES STEPHENSI

La détermination du pouvoir insecticide d'une substance, est évaluée chez les moustiques, à deux phases de leur évolution :

- larve ,
- adulte.

Les méthodes mises en oeuvre pour réaliser cet étude sont adaptées au mode de vie de chaque stade.

Nous avons utilisé une souche d'Anopheles stephensi, élevée et entretenue au Laboratoire d'Immunologie et Biologie parasitaire de la Faculté de Médecine (Professeur PAUTRIZEL), qui nous a été remise par Madame TRIBOULEY.

II'

ADULTES

Nous prenons des Anophéles âgées de 2 à 6 jours n'ayant jamais reçu de repas sanguin. Leur nourriture est assurée uniquement par un tampon imbibé d'eau glucosée à 10 %.

A - METHODE D'ETUDE

1°) Principe

Des lots mixtes de moustiques sont soumis à des concentrations croissantes de produits, déposés sur la surface interne des récipients d'épreuve, sous la forme de pellicule microcristalline.

Le temps de contact est ici encore une fois théorique, puisque les insectes peuvent voler.

2°) Technique

Nous préparons les concentrations requises pour l'épreuve, par dilution acétonique d'une solution mére de produit à 10 mg dans 100 ml d'acétone pure. Les récipients d'épreuve présentent une surface interne de 122 cm2 approximativement. Chacun reçoit 1,22 ml des solutions d'épreuve. Nous obtenons ainsi, directement, les concentrations en mg/m2.

Le solvant est ensuite évaporé par rotation manuelle des flacons en position inclinée, à proximité d'une source de chaleur de façon à enduire uniformément les parois internes des récipients.

Les moustiques sont introduits par lots de 15 à 20, lorsque l'odeur d'acétone est totalement disparue.

Les diptéres sont capturés au moyen d'un tube d'aspiration relié à une trompe à vide, dont le débit est convenablement réglé, de façon à ne pas traumatiser les insectes lors de leur transfert. Les récipients sont fermés avec un capuchon de tulle puis placés verticalement dans une cuve en plastique recouverte par un linge maintenu humide pendant toute la période d'exposition, ceci dans le but de maintenir des conditions atmosphériques très voisines de celles qui caractérisent l'élevage. (Température : 22-23° C ; humidité relative : 90-95 %).

Le nombre de morts correspondant à chacune des concentrations est enregistré au bout de 24 heures.

Nous procédons finalement à la détermination des sexes, aprés avoir tué les survivants à l'acétate d'éthyle. La différence entre les mâles et les femelles se situe au niveau des antennes :

- Elles sont plumeuses chez les mâles ;
- Celles des femelles n'étant munies que de soies peu nombreuses et courtes.

B - RESULTATS

Tout moustique incapable de marcher est considéré comme mort.

Lorsque le pourcentage de mortalité des témoins est supérieur à 20 %, l'épreuve est considérée comme nulle.

Les pourcentages de mortalité des épreuves sont calculés en tenant compte du nombre de morts dans le témoin d'aprés le formule d'ABBOTT précédemment appliquée pour Musca domestica.

Les résultats obtenus avec le DDT, le dithymyl-trichloréthane et le dithymyl-méthane (Tableaux XIV, XV, XVI, XVII) permettent en interprétant les courbes "doses - mortalité" (Figure 1) de déterminer les concentrations létales 50.

Dithymyl-méthane	:	7,2 mg/m2
Dithymyl-trichloréthane	:	4,4 mg/m2
D.D.T.	:	1.10^{-3} mg/m2

Ces doses montrent que l'activité de ces deux produits à l'égard des anophéles adulte est sensiblement égale.

Cependant leur toxicité est limitée puisqu'il faut en effet utiliser les doses environ 5.000 fois supérieures à celles du DDT pour obtenir les mêmes résultats.

TABLEAU XII

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE SUR ANOPHELES STEPHENSI ADULTES

Concentration en mg/m2	Nbre de moustiques	Population ♀	Population ♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
D.D.T.					
0,1	15	8	7	15	100 %
1	15	8	7	15	100 %
10	15	5	10	15	100 %
DITHYMYL-METHANE					
0,1	15	3	12	2	13,3 %
1	15		15	5	33,3 %
10	15	3	12	13	87 %
TEMOIN					
Acétone seule	15	6	9	0	

TABLEAU XIII

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE

SUR ANOPHELES STEPHENSI ADULTE

Concentration en mg/m2	Nbre de moustiques	Population ♀	Population ♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
D.D.T.					
0,0001	10		10	2	0 %
0,001	10	3	7	6	50 %
0,01	10	2	8	10	100 %
0,1	10	5	5	10	100 %
DITHYMYL-METHANE					
0,1	10	5	5	2	0 %
1	10	5	5	4	25 %
10	10	3	7	8	75 %
TEMOIN					
Acétone seule	10	5	5	2	

TABLEAU XIV

ACTIVITE DU DITHYMYL-METHANE ET DU DITHYMYL-TRICHLORETHANE SUR ANOPHELES STEPHENSI ADULTE

Concentration en mg/m2	Nbre de moustiques	Population ♀	♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
DITHYMYL-METHANE					
0,1	15	6	9	2	7 %
1	15	5	10	4	21 %
10	15	4	11	9	57 %
DITHYMYL-TRICHLORETHANE					
0,1	15	3	12	2	7 %
1	15	5	10	5	28 %
10	15	3	12	10	64 %
TEMOIN					
	5	7	8	1	

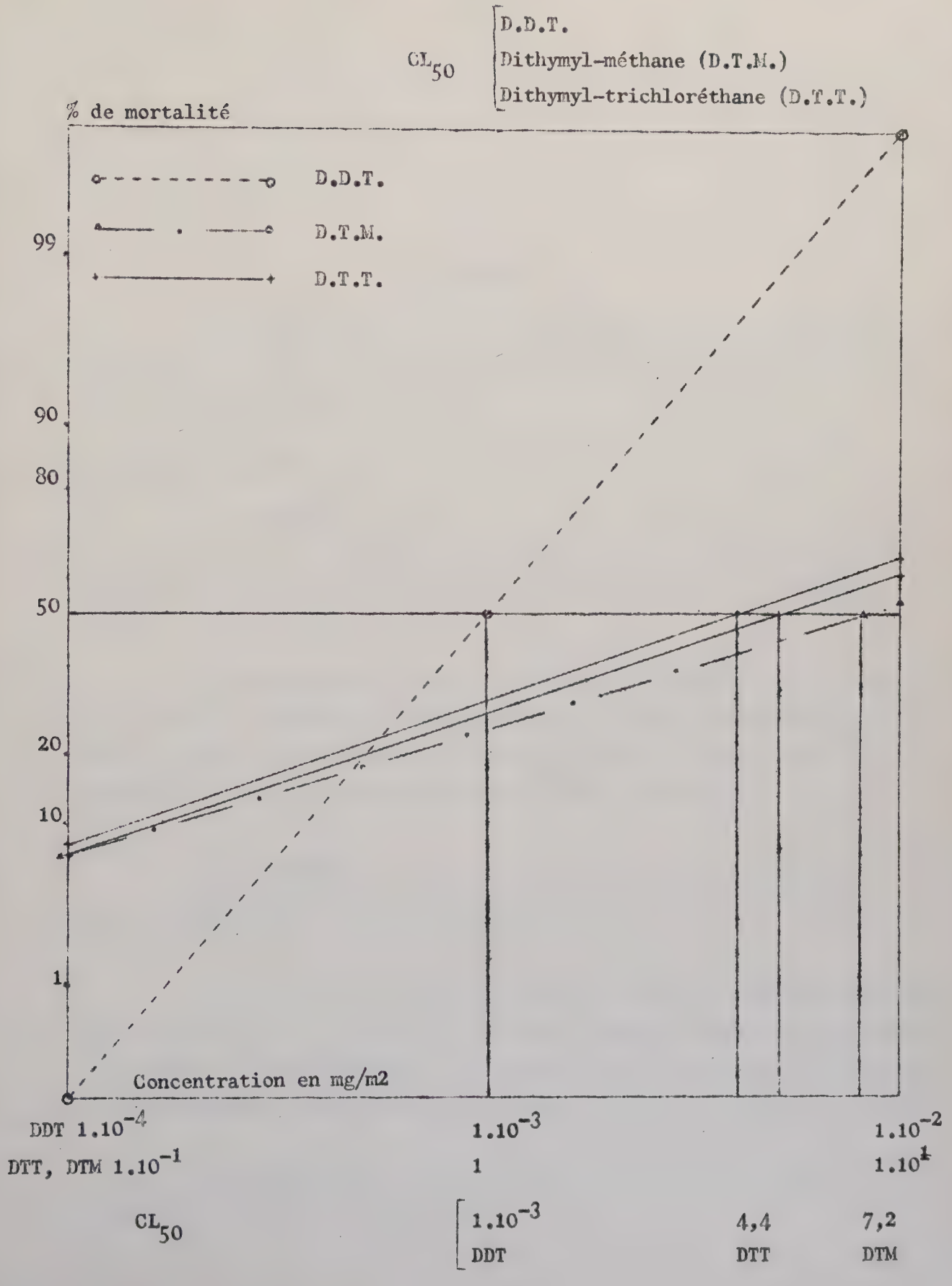
TABLEAU XV

ACTIVITE DU DITHYMYL-METHANE ET DU DITHYMYL-TRICHLORETHANE

SUR ANOPHELES STEPHENSI ADULTE

Concentration en mg/m2	Nbre de moustiques	Population ♀	Population ♂	Nbre de morts	Pourcentage de mortalité
DITHYMYL-METHANE					
0,1	20	4	16	2	0 %
1	20	11	9	7	28 %
10	20	5	15	10	44 %
DITHYMYL-TRICHLORETHANE					
0,1	20	10	10	3	6 %
1	20	14	6	7	28 %
10	20	12	8	13	61 %
TEMOIN					
	20	9	11	2	

Figure n° 1


CL_{50}
D.D.T.
Dithymyl-méthane (D.T.M.)
Dithymyl-trichloréthane (D.T.T.)
% de mortalité
D.D.T.
D.T.M.
D.T.T.
99
90
80
50
20
10
1
Concentration en mg/m2
DDT 1.10-4
DTT, DTM 1.10-1
1.10-3
1
1.10-2
1.101
CL_{50}
1.10-3
DDT
4,4
DTT
7,2
DTM

II'

LARVES

Notre étude porte sur des larves d'anopheles arrivées au quatriéme stade de leur développement. La méthode que nous avons utilisée est celle décrite par l'O.M.S. (15).

A - MATHODES D'ETUDE

1°) Principe

L'activité insecticide d'un produit vis à vis des larves d'anopheles ne peut être évaluée qu'après dissolution dans l'eau, en raison du mode de vie aquatique des larves.

L'insolubilité du dithymyl-méthane et du DTM nous fait recourir à un artifice : nous dissolvons les substances dans l'alcool éthylique absolu, puis on incorpore cette solution à l'eau. On obtient ainsi une suspension microcristalline qui sédimente très lentement.

2°) Technique

Nous obtenons les concentrations d'épreuve par dilution des solutions méres dans l'alcool éthylique absolu.

Les larves sont placées par lots de 15 dans des béchers contenant chacun 100 ml d'eau. En raison de la haute teneur du chlore et en matières organiques de l'eau ordinaire, nous utilisons une eau de source dépourvue de ces éléments qui manifestent des actions toxiques à l'égard des larves.

La température de l'eau doit être aussi constante que possible et doit se situer aux alentours de 25 à 26° C.

Des cristallisoirs contenant 399 ml de cette même eau, reçoivent 1 ml de chaque concentration que l'on introduit sous la surface de l'eau. Le mélange est agité énergiquement pendant 30 secondes de façon à bien homogénéiser la suspension. Les concentrations finales ainsi obtenues sont les suivantes :

TABLEAU XVI

Equivalence entre les concentrations des solutions et les concentrations d'épreuve

Produits	Concentration des solutions (en mg/25 ml)	Concentration d'épreuve en p.p.m. *
D.D.T.	25	2
	12,5	1
	1,25	0,1
	0,125	0,01
	0,125	0,001
	0,00125	0,0001
D.D.T.	125	10
	62,5	5
	12,5	1
	1,25	0,1

* en parties par million,

** dithymyl-méthane

Un témoin est réalisé parallélement dans les mêmes conditions avec 1 ml d'alcool éthylique pur.

Les cristallisoirs sont placés à proximité d'une source lumineuse pendant 6 heures 30.

La durée d'exposition étant de 24 heures on dénombre les larves mortes au bout de ce temps, en tenant compte des larves moribondes;

Nous considérons comme mortes toutes les larves qui sont incapables de bouger lorsqu'on les touche au niveau du siphon ou bien à la région cervicale ; comme moribondes toutes celles qui sont incapables d'atteindre la surface de l'eau dans un laps de temps raisonnable, ou qui présentent des positions insolites.

B - RESULTATS

Les résultats sont retenus dans la mesure où le nombre de morts dans le témoin ne dépasse pas 20 %, et où le pourcentage de transformation des larves témoins en nymphes reste inférieur à 10 %.

Nous enregistrons uniquement les pourcentages de mortalité corrigés, qui tiennent compte du nombre de morts du témoin.

Les larves qui se transforment en nymphes au cours de l'épreuve ne sont pas comptées.

Les résultats obtenus avec le dithymyl-méthane (Tableau XIV, XX) mettent en évidence l'inefficacité de ce produit vis à vis des larves d'anophéles : utilisé à la dose de 10 p.p. m. il ne tue aucune larve.

Le dithymyl-trichloréthane étudié par ROUGE (17) ne manifeste qu'une très légère activité à l'égard de ces larves.

TABLEAU XVII

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE
SUR LES LARVES D'ANOPHELES STEPHENSI

Concentration en p.p.m.	Nbre de Larves	Nbre de Larves mortes	Nbre de larves moribondes	Pourcentage de mortalité
D.D.T.				
0,0001	15	0	8	48 %
0,001	15	2	8	63 %
0,01	15	8	5	85 %
0,1	15	10	5	100 %
DITHYMYL-METHANE				
0,1	15	0	0	0 %
1	15	0	1	0 %
5	15	0	1	0 %
10	15	0	0	0 %
TEMOIN				
Alcool seul	15	0	2	

TABLEAU XVIII

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE

SUR LES LARVES D'ANOPHELES STEPHENSI

Concentration en p.p.m.	Nbre de Larves	Nbre de Larves mortes	Nbre de Larves moribondes	Pourcentage de mortalité
D.D.T.				
0,0001	25	1	11	45 %
0,01	25	1	16	68 %
0,1	25	5	20	100 %
10	25	1	0	4 %
Alcool seul	25	0	0	

III

ETUDE SUR RHODNIUS PROLIXUS

Nous avons réalisé cet étude selon la technique décrite par l'OMS (16) sur une souche de Rhodnius prolixus qui nous a été fournie par le Laboratoire d'Immunologie et de Biologie Parasitaire (Professeur PAUTRIZEL).

A - CONDITIONS D'ELEVAGE

Les adultes sont placés dans des bocaux en verre d'un litre, dont le fond est tapissé par du papier filtre et qui sont recouverts par du tulle.

En raison de la difficulté qu'éprouvent ces insectes à se déplacer le long des parois de verre, nous introduisons des papiers plissés longitudinalement à la surface des quels leur marche est plus aisée.

Pour accélérer leur reproduction ainsi que leur vitesse de croissance, nous plaçons les réduves dans une étuve munie d'un dispositif de renouvellement d'air thermostatée à 25° C et dont le pourcentage d'humidité relative est de l'ordre de 50 %.

Lors de la ponte, les femelles viennent déposer leurs oeufs, petits, roses et operculés, à la surface des papiers. Au bout d'une dizaine de jours ces oeufs éclosent et donnent naissance aux jeunes larves qui ne différent des adultes que par la taille, l'absence d'ailes et d'armature génitale. Après une série de mues, 5 environ, elles atteignent le stade nymphal caractérisé par la présence d'ailes rudimentaires, visibles sour le tégument et faisant saillie dans des fourreaux

alaires. A ce stade les Rhodnius subissent une derniére mue de laquelle sort l'imago.

La nourriture de ces insectes étant exclusivement assurée aux dépends des vertébrés à sang chaud, nous utilisons pour cela le lapin. Celui-ci étant attaché en position dorsale, nous déposons le bocal contenant les Réduves sur sa région abdominale préalablement rasée et nous l'y maintenons à l'obscurité pendant 30 à 40 minutes. Les Rhodnius piquent le lapin à travers les mailles du tulle jusqu'à réplétion.

Le lendemain du repas sanguin nous transférons toutes les réduves dans des bocaux propres et nous remplaçons les papiers filtres souillés, à l'exception de ceux où les oeufs ont été déposés.

B - METHODE D'ETUDE

1°) Principe

Cette méthode consiste à mettre ces Réduves au contact de papiers imprégnés d'une solution d'insecticide préparée par dissolution des produits dans une solution éthérée d'huile d'olive neutralisée.

2°) Technique

En raison de l'insolubilité des substances dans l'huile d'olive, nous dissolvons chaque produit au préalable dans 3,5 ml d'éther éthylique R.P., puis nous ajoutons aussitôt aprés 10 ml d'huile d'olive neutralisée. Nous obtenons ainsi les différentes concentrations d'épreuve.

Nous effectuons les essais dans des tubes de verre de 2,7 cm de diamètre interne et de 25 cm de hauteur dans lesquels nous introduisons un papier imprégné par 0,36 ml de chacune des solutions huileuses. Nous utilisons un papier à chromatographie (WATMANN n° 3) de 2,5 cm de large et 15 cm de haut, offrant une surface de 37,5 cm2 et plissé en rigole dans le sens de la longueur.

Les diverses concentrations utilisées sont les suivantes :

TABLEAU XIX

Equivalence entre les concentrations
des solutions et les concentrations d'épreuve

Produits	Concentration des solutions (en mg/13,5 ml)	Concentrations d'épreuve : (mg/cm2)
D.D.T.	250	0,18
	100	0,072
	25	0,018
D.T.M.*	500	0,36

* Dithymyl-méthane

Après évaporation totale de l'éther nous introduisons les insectes dans les tubes qui sont placés verticalement, pendant toute la durée de l'exposition (5 jours), dans les mêmes conditions atmosphériques que celles requises pour l'élevage. Au bout du cinquième jour, nous déterminons le nombre de morts correspondant à chacune des concentrations ainsi que la constitution de la population. La différenciation du sexe des adultes se fait au niveau des derniers segments abdominaux. Chez le mâle il existe 11 segments abdominaux, mais on ne distingue que 8 sternites (du II au IX), le IX étant le segment génital il forme un pygophore et renferme le penis. Les segments X et XI, uniquement dorsaux, entourent l'anus. Chez la femelle le nombre de segments est identique à celui du mâle, mais le sternite VII est creusé et il est suivi du VIIIème sternite qui est divisé en deux lames. Les sternites et tergites IX, X et XI, sont modifiés en un complexe génito-anal.

L'épreuve comporte toujours un témoin dont le papier est imprégné uniquement de 0,36 ml d'une solution d'huile d'olive éthérée.

Dans cette épreuve le temps de contact est réel dans la mesure où les Rhodnius étant incapables de se déplacer sur les parois des tubes restent constamment au contact des papiers imprégnés.

C - RESULTATS

Tout insecte incapable de se mouvoir ou de s'accrocher au papiers est considéré comme mort.

Nous retenons uniquement les épreuves où le nombre de morts des témoins est inférieur à 20 %.

La sensibilité des Reduviides adultes à l'égard du dithymyl-méthane employé à la concentration de 0,36 mg/cm2 est nulle (Tableau XXII)

Aux mêmes doses ROUGE (17) obtient pour le dithymyl-trichloréthane des résultats identiques.

Donc contrairement au DDT aucun de ces 2 produits n'est efficace contre ces hétéroptéres.

TABLEAU XX

ACTIVITE DU D.D.T. ET DU DITHYMYL-METHANE

SUR RHODNIUS PROLIXUS

Concentration en mg/cm2	Nbre de Réduves	Nbre de morts	Population ♀	Population ♂	Pourcentage de mortalité
D.D.T.					
0,018	10	1	5	5	0 %
0,072	10	8	5	5	78 %
0,18	10	10	6	4	100 %
DITHYMYL-METHANE					
0,36	10	0	5	5	0 %
TEMOIN					
	10	1	6	4	

IV

DISCUSSION

Au cours de cette étude nous avons voulu montrer l'influence exercée sur le pouvoir insecticide par les groupements fixés sur les noyaux aromatiques ainsi que par la nature du pont qui les réunis.

Mis à part les Anophéles adultes, tous les autres insectes ayant fait l'objet de notre étude sont insensibles, dans les conditions expérimentales choisies, à l'action du dithymyl-méthane et du dithymyl-trichloréthane.

A l'égard des adultes d'A. stephensi ces 2 composés manifestent une toxicité du même ordre, de faible intensité en comparaison de celle qui caractérise le DDT.

CONCLUSIONS GENERALES

La nocivité de certains dérivés du diphényl-méthane à l'égard des Plathelminthes nous a conduit à synthétiser un nouveau corps constitué de deux molécules de thymol réunies par un pont - CH_2 - et dénommé dithymyl-méthane. L'intérêt que nous avons porté au thymol provient des propriétés anthelminthiques qui lui sont depuis longtemps attribuées.

Cette nouvelle molécule est peu nocive pour les oxyuridés des souris : elle est incapable de déparasiter celles-ci de Syphacia obvelata et n'entraîne qu'une réduction limitée du nombre d'Aspiculuris tetraptera. Par contre elle est suceptible d'éliminer Hymenolepis nana d'un certain nombre de ces rongeurs, manifestant ainsi une action taenicide rappelant celle qui caractérise le dichlorophéne et l'hexachlorophéne tous deux présentant la structure du diphényl-méthane.

Etudié dans les mêmes conditions, le thymol est totalement inefficace contrairement à ce qué l'on aurait pu penser de l'usage clinique qu'il a reçu et qui en est encore fait.

Le dithymyl-trichloréthane apparenté à la molécule qui fait l'objet de notre étude présente des propriétés inverses dans la mesure ou il déparasite les souris de leur oxyuridés non de leur tenia nain.

Ainsi, dans les conditions expérimentales ou nous nous sommes placés, deux molécules de thymol unies par un radical - CH_2 - acquiérent une activité taenicide mais non oxyuricide, tandis qu'en les unissant par un groupement - $\overset{|}{C}H - CCl_3$ les propriétés anthelminthiques apparues sont inversées.

L'analogie de constitution entre le dithymyl-trichloréthane et

le DDT n'entraîne pas une similitude du point de vue insecticide ; le premier étant doué d'inocuité à l'égard des insectes testés (Musca domestica, Anopheles stephensi larves, Rhodnius prolixus) excepté vis à vis d'A. stephensi adultes. Les résultats obtenus avec le dithymyl-méthane sont superposables : inocuité sauf pour les adultes d'A. stephensi.

Donc du point de vue insecticide la nature des radicaux unissant les deux molécules de thymol n'intervient pas.

Pour compléter cette exploration des propriétés anti parasitaires du dithymyl-méthane, il convient d'ajouter que le thymol introduit dans cette combinaison perd sa toxicité à l'égard du Mammifére hôte représenté par la souris.

B I B L I O G R A P H I E

1. -- AMYOT B. -
Etude expérimentale du pouvoir anthelminthique de nouveaux dérivés du diphényl-méthane :
Thése Pharmacie, Bordeaux 1967.

2. - BAILENGER J.
Pouvoir anthelminthique du dithymyl-trichloréthane et de ses dérivés.
Revue française de Gastroentérologie 1970, 61, 11-16

3. - BAILENGER J., AMYOT B.
Etude expérimentale du pouvoir anthelminthique de nouveaux dérivés du diphényl-méthane.
Thérapie 1967, 22, 285-296

4. - BAILENGER J., DAYRAUT B.
Etude expérimentale du pouvoir anthelminthique de nouveaux dérivés du diphényl-trichloréthane
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 1968, 107, 149-156

5. - BAILENGER J., DAYRAUT B.
Influence de quelques radicaux substitués dans les noyaux aromatiques du diphényl-trichloréthane sur son activité anthelminthique.
Thérapie 1969, 24, 343-352

6. - BAILENGER J., ROUGE M., TRIBOULEY J.
Etude comparée de l'activité insecticide de contact de plusieurs dérivés du diphényl-trichloréthane.
Bull. O.M.S. (sous presse)

7. - BEHRENS B., KAERBERG G.
Comment détermine-t-on la toxicité d'une drogue pour l'animal de laboratoire ?
Pharmacie française 1948, 52, n° 4, 4 - 13.

8. - BLOCK J.
Problèmes d'actualité en Parasitologie vétérinaire.
Les cahiers Bleus Vétérinaires 1963, 6, 3-10.

9. - CAVIER R.
Sur une nouvelle technique pharmacologique d'essai des taenifuges.
Ann. Pharm. Française 1956, 14, 545-542.

10. - GRAS G., UN S.
Chimiothérapie expérimentale des helminthiases.
Arch. Inst. Pasteur Tunis 1967, 44, n° 2-3, 141-154.

11. - GUILHON J, GRANER M.
Propriétés fasciolocides de l'Hexachloro-dihydroxy-diphényl-méthane et sa toxicité à l'égard des moutons.
Bull. Na Vet. 1961, 34, 119

12. - KEER K.B.
Hexachlorophéne as an agent for the removal of Raillietina cesticillus.
Poultry Science 1948, 27, 781-788.

13. - O.M.S.

Méthode proposée pour déterminer la sensibilité ou la résistance des Mouches domestiques aux insecticides.
Série de Rapports techniques, 1963, 265, 103-106.

14. - O.M.S.

Méthode proposée pour déterminer la sensibilité ou la résistance des Mouches domestiques aux insecticides.
Série de Rapports techniques, 1970, 443, 126-131

15. - O.M.S.

Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de Moustiques aux insecticides.
Série de Rapports techniques, 1970, 443, 73-78

16. - O.M.S.

Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des Reduviides aux insecticides.
Série de rapports techniques, 1970, 443, 105-109.

17. - ROUGE M.

Etude des propriétés insecticides de plusieurs dérivés du diphényl-trichloréthane. Influence de la structure chimique.
Thése Pharmacie, Bordeaux 1970.

TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	
ETUDE PHYSICO - CHIMIQUE	
I. - SYNTHESE	5
A - PRINCIPE	5
B - REACTIFS	6
C - PREPARATION	6
D - PURIFICATION	6
II. - PROPRIETES PHYSICO CHIMIQUES	7
A - COMPOSITION	7
B - POINT DE FUSION	7
C - SOLUBILITE	7
D - DOSAGE DES GROUPEMENTS HYDROXYLS	8
1°) Principe	8
2°) Technique	8
3°) Résultats	8
DEUXIEME PARTIE	
TOXICITE	
I. - PRINCIPE	10
II. - CONDITIONS DE DETERMINATION	10

III. - RESULTATS 10

IV. - ETUDE COMPAREE DU DITHYMYL-METHANE AVEC LE DITHYMYL-TRICHLORETHANE ET LE THYMOL 11

TROISIEME PARTIE

ACTIVITE ANTHELMINTHIQUE

I. - CONDITIONS DE DETERMINATION 13

A - CHOIX DES ANIMAUX 13

B - RECHERCHE DES PARASITES 13

C - TRAITEMENT 14

D - CONTROLE DU TRAITEMENT 15

II. - RESULTATS 17

III. - DISCUSSION 23

QUATRIEME PARTIE

ACTIVITE INSECTICIDE

I. - ETUDE SUR MUSCA DOMESTICA 29

A - CONDITIONS D'ELEVAGE 29

B - METHODES D'ETUDE 30

1°) Méthode utilisant un dépôt microcristallin 30

a) Principe 30

b) Technique 31

2°) Méthode utilisant l'application topique 32

a) Principe 32

b) Technique 32

C - RESULTATS 33

II. - ETUDE SUR ANOPHELES STEPHENSI 37

II'. - ADULTES 37

A - METHODE D'ETUDE 37

1°) Principe 37

2°) Technique 38

B - RESULTATS 39

II''- LARVES 45

A - METHODE D'ETUDE 45

1°) Principe 45

2°) Technique 45

B - RESULTATS 47

III. - ETUDE SUR RHODNIUS PROLIXUS 50

A - CONDITIONS D'ELEVAGE 50

B - METHODE D'ETUDE 51

1°) Principe 51

2°) Technique 51

C - RESULTATS 53

IV. - DISCUSSION 55

CONCLUSIONS GENERALES 56

BIBLIOGRAPHIE 59

TABLE DES MATIERES 62